

**WEST****Help      Logout****Main Menu    Search Form    Result Set    Show S Numbers    Edit S Numbers****First Hit                  Previous Document                  Next Document****Full    Title    Citation    Front    Review    Classification    Date    Reference    Claims    KWIC****Document Number 12**

Entry 12 of 14

File: DWPI

Mar 14, 1984

DERWENT-ACC-NO: 1984-103721

DERWENT-WEEK: 198417

COPYRIGHT 1999 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Utilising copra lees, recovering sugar and protein - by adding culture liquid of microbial strain of Aspergillus or Bacillus in aq. suspension of lees

PATENT-ASSIGNEE: AJINOMOTO KK[AJIN]

## PRIORITY-DATA:

1982JP-0156402

September 8, 1982

## PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
JP 59045833 A	March 14, 1984	N/A	003	N/A

## APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DESCRIPTOR	APPL-NO	APPL-NO
JP59045833A	September 8, 1982	1982JP-0156402	N/A

INT-CL (IPC): A23J 1/14; C12P 19/02

ABSTRACTED-PUB-NO: JP59045833A

## BASIC-ABSTRACT:

Method comprises (a) adding culture liq. of microbial strain of Aspergillus or Bacillus to aq. suspension of copra lees, (b) maintaining the suspension at 30-70 deg.C and (c) recovering sugar and protein from the top clear.

Pref. Aspergillus awamori AJ117113 (FERM-P6637) and Bacillus subtilis AJ11922(FERM-P6638) are used and show strong decomposing activity to glucomannan. Obtd. protein shows similar protein efficiency rate as milk casein and can be used as food, feed, etc. Obtd. sugar is a mixt. composed of mannose, glucose and galactose in wt. proportion of 9:2:1.

Copra lees are the residue obtd. by pressing coconut oil from copra and until now have been partly used as fertiliser and mainly discarded. Copra lees contain protein ca. 24%, but being strongly bound with cellulose or other polysaccharides, the protein has been difficult to separate. Now cellulose or other polysaccharides bound to the protein, can be effectively decomposed using microbe of Aspergillus or Bacillus and after decomposition protein and large amts. of sugar can be dissolved out in the top clear.

CHOSEN-DRAWING: Dwg.0/0

## TITLE-TERMS:

UTILISE COPRA LEE RECOVER SUGAR PROTEIN ADD CULTURE LIQUID MICROBE STRAIN ASPERGILLUS BACILLUS AQUEOUS SUSPENSION LEE

DERWENT-CLASS: C03 D13

CPI-CODES: C04-A07F; C04-B04A; C04-C02; C10-A07; C11-A; C12-J01; C12-L09; D03-F01;  
D03-F03; D05-C; D06-G;

**CHEMICAL-CODES:**

Chemical Indexing M1 \*01\* Fragmentation Code L814 L815 L816 M423 M720 M903 N131 N137  
N161 N513 V794 Chemical Indexing M1 \*02\* Fragmentation Code M423 M720 M903 N131 N137  
N161 N513 P714 Q211 Q212 Q213 Q214 V752 Chemical Indexing M1 \*03\* Fragmentation Code  
M423 M720 M903 N131 N137 N161 N513 P113 V400 V406

**SECONDARY-ACC-NO:**

CPI Secondary Accession Numbers: C1984-043905

[Main Menu](#) | [Search Form](#) | [Result Set](#) | [Show S Numbers](#) | [Edit S Numbers](#)

First Hit

Previous Document

Next Document

[Full](#) | [Title](#) | [Citation](#) | [Front](#) | [Review](#) | [Classification](#) | [Date](#) | [Reference](#) | [Claims](#) | [KMC](#)

[Help](#)

[Logout](#)

⑯ 日本国特許庁 (JP)      ⑮ 特許出願公開  
⑰ 公開特許公報 (A)      昭59—45833

⑯ Int. Cl.<sup>3</sup>  
A 23 J 1/14  
C 12 P 19/02

識別記号      廷内整理番号  
7915—4B  
7258—4B

⑯ 公開 昭和59年(1984)3月14日  
発明の数 1  
審査請求 未請求

(全 3 頁)

④ コブラ粕の利用方法

② 特願 昭57—156402  
② 出願 昭57(1982)9月8日  
特許法第30条第1項適用 昭和57年3月10日  
社団法人日本農芸化学会の「日本農芸化学会  
昭和57年度大会講演要旨集」において発表

⑦ 発明者 小崎道雄  
東京都世田谷区上用賀3—7—  
10  
⑦ 出願人 味の素株式会社  
東京都中央区京橋1丁目5番8  
号

明細書

1. 発明の名称

コブラ粕の利用方法

2. 特許請求の範囲

コブラ粕のけん済液にアスペルギルス属又はバチルス属の微生物の培養液を加えた後、このけん済液を30℃から70℃の範囲の温度に保ち、ついでけん済液上澄より糖類及び蛋白質を採取することを特徴とするコブラ粕の利用方法

3. 発明の詳細な説明

この発明は、コブラ粕の利用方法に関する。

コブラは、東南アジアを中心に生育するココヤシの実の胚乳部を乾燥したものであり、食用又は工業用ヤシ油の原料として重視されている。コブラの生産量は、全世界で年間503万トン(1978年)であり、その70%の355万トンがフィリピン及びインドネシア両国で生産されている。コブラからヤシ油を搾った粕を通称コブラ粕と云い、コブラの約50%を占めるが、その用途は肥料に

使われているにすぎず、その大半は廃棄されている。

コブラ粕は約24%の蛋白質を含むが、コブラ粕中の蛋白質は纖維素或いは他の多糖類と強固に結合して存在しているために、蛋白質をコブラ粕より抽出分離するのは極めて困難であった。

そこで、発明者らは、このようなコブラ粕から蛋白質を抽出分離する方法を開発すべく研究したところ、アスペルギルス属又はバチルス属の微生物の作用により蛋白質と強固に結合している多糖類を効率良く分解すること、及びこれらの方法で多糖類を分解すれば容易に蛋白質が溶出すること、更には分解後の上澄には多量の糖類が溶出することを見い出し、更に研究の結果、本発明を完成した。

即ちこの発明は、コブラ粕のけん済液にアスペルギルス属又はバチルス属の微生物の培養液を加えた後、このけん済液を30℃から70℃の範囲の温度に保ち、ついでけん済液上澄より糖類及び蛋白質を採取することを特徴とするコブラ粕の利

用方法、である。

本発明において使用されるアスペルギルス属又はバチルス属の微生物は、コンニャクグルコマンナンを唯一の炭素源として生育できるものとして分離された。具体的に例示すれば、以下の微生物がある。

アスペルギルス・アワモリ AJ 117113 (FERM-P 6637)

バチルス・ズブチリス AJ 11922 (FERM-P 6638)

これらの例示の菌株は、極めて高いグルコマンナン分解活性を有するものである。

コブラ柏は、望ましくは5 g/dlないし20 g/dlの範囲の濃度となるよう水にけん済する。けん済に先立ち、コブラ柏を乾燥し、さらにより細かく粉砕しておくことが望ましい、通常60メッシュから200メッシュの範囲にされる。

このけん済液に、アスペルギルス属又はバチルス属の微生物の培養液を添加する。培養液としては、菌糸、菌体を含む培養液そのものはもちろん、培養液上清、更には菌糸、又は菌体磨碎物も含まれる。培養液の添加量は、グルコマンナン分解活

- 3 -

マグネシウムイオン、マンガニイオン、鉄イオン、リン酸イオン等の無機イオンを適宜培地に添加してもよい。

培養は25℃ないし40℃の範囲の適当な温度で、好気的条件で行なわれる。培養時間は通常1日ないし5日間でよい。

培養液が添加されたけん済液は、30℃から70℃の範囲より望ましくは55℃から65℃の範囲の温度に保たれる。この際けん済液のpHは1.5ないし8.5、より望ましくは5.0ないし6.0とすれば、好ましい結果が得られる。この間けん済液は適宜攪拌する。

このようにして1ないし4日間けん済を保てば、けん済液上澄液中に単糖類、寡糖類等の糖類及び多量の蛋白質が溶出される。尚けん済液中固形分を除く前にけん済液をアルカリ性及び／又は酸性とし、糖類及び蛋白質の溶出を促進せしめてもよい。

上澄液は沪過又は遠心分離により得られ、上澄液より糖類及び蛋白質を採取する方法は通常の

性として5,000単位以上が効率がよい。

培養液のグルコマンナン分解活性は以下のようにして測定する。

すなわち、培養液1 mlを0.2%のグルコマンナンを含有する酢酸緩衝液4 mlに加えて、40℃で30分反応させた後、この反応液中の直接還元糖量を3,5-ジニトローサリシリック法 (J.B. Summer, J. Biol. Chem., 65, 393 (1952)) によりマンノースとして定量した。

このような条件においてグルコマンナンよりマンノース1%を生成する分解活性を1単位とした。

アスペルギルス・アワモリ或いはバチルス・ズブチリスを培養する培地は、乾燥後微粉碎したコブラ柏を0.2 g/dlないし1.0 g/dlとなるよう水に懸滴し、細菌用としてpH 7、糸状菌用としてpH 5に調整した後、加熱殺菌した極めて単純な培地を用いることができる。もちろん必要により培地に、アンモニウムイオン、硝酸イオン、アミノ酸、蛋白等の窒素源、アミノ酸、ビタミン等の有機微量栄養素、カリイオン、ナトリウムイオン、

- 4 -

方法で行なうことができる。例えば上澄液にアルコール等の極性有機溶媒を添加して糖類及び蛋白質を共に採取してもよい。また上澄液のpHを3.2に調節し、蛋白のみを沈殿せしめ、ついで糖類を常法により分離してもよい。あるいは、限界沪過膜を用いて、蛋白質と糖類を分別してもよい。

得られた糖は、マンノース、グルコース及びガラクトースを含み、その比率はおよそ9:2:1である。

精製された蛋白質の溶液は、必要により酸或いはアルカリにて中和後再度限界沪過装置に流して精製する。

ついで精製液をその固形分濃度が2.0%になるまで真空で濃縮した後、凍結乾燥することにより栄養価の優れたコブラ柏の蛋白質を純粋かつ変性のない状態で得ることができる。

かくして得られる蛋白質は、ミルクカゼインと同程度の蛋白質効率 (Protein Efficiency Ratio) を有し、消化率も高く、飼料、食料として勝れたものである。

- 5 -

## 実施例 1

乾燥コブラ粕(40~80メッシュ)40gを水10mlに懸濁後、pH 5.0にて調整し、小型ジャー培養槽にて移し、120℃にて15分間加熱殺菌した。

ついでアスペルギルス・アワモリ AJ 117113(FERM-P 6637)を接種し、30℃にて4日間、通気攪拌培養した。

培養液を1500×gにて10分間遠心分離し、上清液8.5mlを酵素源として得た。

一方、乾燥コブラ粕をクロロホルム：エタノール(2:1)の溶媒を用い常温で20時間脱脂した後、40℃で乾燥した。

この脱脂乾燥コブラ粕を微粉碎し、80メッシュ以上の区分3kgをM/5酢酸緩衝液(pH 5.3)30mlに懸濁し、120℃にて15分間オートクレーブ殺菌した。これに、前記の酵素源を加え、60℃にて2時間緩やかに攪拌しつつ保った。このけん觸液50mlを取り、滤紙で滤過して得た滤液中の還元糖量を3,5-ジニトローサリシリック法でマンノースとして定量した結果、糖化率は97.5%

- 7 -

発酵槽に移し、120℃、15分間オートクレーブ殺菌した。

ついでバチルス・ズブテリス AJ 11922(FERM-P 6638)を接種し、30℃にて2日間通気攪拌培養した。

培養液を1500×gにて10分間遠心分離し、上清液8.9mlを酵素源として得た。

この酵素源を用いて実施例1と全く同様にしてコブラ粕の糖化を行った後、実施例1と全く同様の方法で蛋白質の分離精製を行い、純度98%の蛋白質432gを得た。

であった。

また、この滤液中の糖の種類をペーパークロマトグラフィーにて調べた結果、多い順にマンノース、グルコース、ついでガラクトースであった。

ついで、反応終了液35mlにカセイソーダを加えてpH 9.0にて調節した後60℃にて加温し充分攪拌し蛋白質を充分溶出せしめた。

この液を分画分子量50,000の限外滤過膜PM50を装着したロミコン社製ホローファイバー型UFカートリッジC、操作温度60℃、循環流量1l/minで循環させた。

循環終了液20mlに塩酸を加えてpH 7.0にて調節した後、再度UFカートリッジに循環し精製液18mlを得た。

この精製液を65℃で固体分濃度が20%になるまで減圧濃縮した後、凍結乾燥し、純度98%の蛋白質429gを得た。

## 実施例 2

乾燥コブラ粕(40~80メッシュ)40gを水10mlに懸濁後、pH 7.0にて調整し、小型ジャー培

- 8 -

特許出願人

味の素株式会社